临床研究

# 不育男性精子中的顶体酶活性及精液参数研究

成艳君,李雪梅,杨则宝,覃春容,杨宇霞,吴正中,周永红,杨 蔚
深圳市妇幼保健院生殖医学中心,广东 深圳 518000

**摘要:目的** 研究不育男性精子中顶体酶活性与精液参数。**方法** 选取我院收治的不育男性140例作为研究对象,再按照顶体酶参数是否正常划分为两组,观察组1($n$=68)为精液参数正常组,即精液量、液化时间、外观、精子活力、外形以及数量等均无明显异常,观察组2($n$=72)为精液参数异常组,即抗精抗体为阳性或上述检查有不少于1项明显异常,且存在生殖系统急慢性炎症史;选取1年内正常生育男性70例作为研究对象,设为对照组。应用手淫法对所有男性精液予以收集,且应用改良Kennedy法检测精子顶体酶活性,对比3组男性精子顶体酶活性。**结果** 观察组2(a+b)级精子活动率明显低于其他两组($P$<0.05);对照组精子浓度明显高于观察组($P$<0.05);对照组顶体酶活性明显高于观察组1与观察组2($P$<0.05)。**结论** 顶体酶活性低下密切关联于男性不育,检测不育男性精子中顶体酶活性临床价值重大,可将精子质量全面反映出来,进而评价其功能状态,有推广价值。
**关键词:**不育男性;精液;顶体酶活性

## The acrosome enzyme activity and the semen parameters in infertile males

*CHEN Yanjun, LI Xuemei, YANG Zebao, QIN Chunrong, YANG Yuxia, WU Zhengzhong, ZHOU Yonghong, YANG Wei*
*Department of Reproductive Center, Shenzhen Maternal and Child Health Care Hospital, Shenzhen 518000, China*

**Abstract: Objective** To study sperm acrosome enzyme activity and sperm parameters in infertile men. **Methods** A total of 140 cases of infertile subjects were enrolled and divided into two observation groups by the parameter of acrosome enzyme. Semen parameters included shape and number of semen volume, liquefaction time, appearance, sperm motility. 68 subjects with completely normal semen parameters were selected as observation group 1, while the other 72 subjects in observation group 2 has a history of reproductive system inflammation and at least one abnormal semen parameters, or showed an obvious exception of anti-sperm antibodies (AsAb). Control group was set with 70 cases of normal fertile men. Sperm acrosome activity was analysed by improved Kennedy and compared between these three groups. Sperm samples were all collected by masturbation. **Results** Observation group 2 shows a significantly lower value of male sperm acrosome activity than the other two groups ($P$<0.05); Sperm concentration of the control group was (136.84±21.77) × $10^6$/mL, higher than the observation group ($P$<0.05); Acrosome enzyme activity in control group was 92.64±18.75 iIU/$10^6$/mL, significantly higher than the observation group 1 (28.79 ± 3.05 iIU/$10^6$/mL) and observation group2 (16.47 ± 2.47 iIU/$10^6$/mL) ($P$<0.05). **Conclusion** Reduction of acrosome activity is closely associated with male infertility, Detection of sperm acrosome activity in infertile men , which can fully reflected in the quality of sperm, evaluation of their functional status, is of major clinical value.
**Key words:** infertile males; semen; acrosome enzyme activity



当前育龄夫妇受到的最大困扰为男性不育,该问题具有全球性。据调查,育龄夫妇不孕不育症发生率为10%~15%,其中一半为男性原因[1-3]。导致男性不育的因素较多,主要分为外部因素与内部因素,包括遗传、分子突变、酒精、烟草、毒品以及环境等。当前有较多精液分析法,比如精子正常形态比例、精子计数等,但是无法全面了解男性生育能力。经研究得知,正常形态精子率与受精率显著正相关,精子顶体酶在精子受孕过程中有重要参与作用,酶含量直接影响精子生育力[4-6],因此其完整性可将精子顶体酶含量直接反映出来。若精子顶体酶不完整会导致酶漏出,对精子质量与卵子受精产生影响。然而临床很少细致研究精子顶体酶活性与男性不育的关系,本文现选取140例患者与70例健康男性作为研究对象,报告如下。

**收稿日期:**2016-03-01
**作者简介:**成艳君,E-mail:cyjun118@126.com

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取我院2014年1月~2015年1月收治的不育男性140例作为研究对象,再按照顶体酶参数是否正常划分为两组,观察组1($n$=68)为精液参数正常组,观察组2($n$=72)为精液参数异常组。本组患者均有正常性功能,超过2年未采取避孕措施女方仍未妊娠,且女方开展诸项检查均无异常。选取1年内正常生育男性70例作为研究对象,设为对照组,均已生产但育龄在2年以内或者妻子处于妊娠期,行精液常规分析结果正常。所有入选对象年龄为23~43岁,平均34.2±7.3岁。3组患者在一般资料上对比差异不明显($P$>0.05),具有可比性。

### 1.2 检测方法

所有患者禁欲时间为3~7 d,而后应用手淫法对精液予以收集,在精液采集管中放置,称重精液质量对精液体积予以推测,再在37 ℃实验台上放置,用多方位陶

瓷加热棒，处于温度均衡，使其充分液化后开展检测。开展精液常规分析，充分混匀后制备湿片对显微镜下精子外观等予以观察，将精液稀释以检测精子浓度。主要应用计算机辅助精子分析系统检测精子活力，操作时需严格遵循说明书流程；应用改良Kennedy法对精子顶体酶活性进行检测，采用722紫外可见分光光度计。1份精液标本需取样2次开展分别检测，精子计数分别为200个，于95%可信区间内取均值，若不在可信区间内则重新取样重复计数2次。

### 1.3 判定标准

依据WHO精液常规分析标准判定精液常规结果，正常值为精子浓度不低于$20\times10^6$/mL，a级不低于25%或者a级与b级精子活动率之和不低于50%（精子活动率包括前向运动精子百分率和非前向运动精子百分率，前向运动精子为前向性a+b，非前向运动精子为非前向性b+c。对3组顶体酶活性水平差异予以比较分析。

### 1.4 统计学方法

应用软件SPSS20.0统计学处理上述数据，用均数±标准差表示计量资料，组间对比用$t$检验，对比以$P<0.05$代表差异有统计学意义。

## 2 结果

3组顶体酶活性及精液常规分析结果对比，观察组2精子活动率、顶体酶活性以及精子浓度均明显低于对照组（$P<0.05$），对照组精子浓度为（136.84±21.77）$\times10^6$/mL，明显高于观察组（$P<0.05$）；对照组顶体酶活性为92.64±18.75 μIU/$10^6$，明显高于观察组1的28.79±3.05 μIU/$10^6$与16.47±2.47 μIU/$10^6$（$P<0.05$）。观察组1与观察组2上述指标对比均明显（$P<0.05$）；观察组1顶体酶活性与精子浓度明显低于对照组（$P<0.05$）。本组观察组2（a+b）级精子活动率为21.18%±3.95%，明显低于其他两组（$P<0.05$，表1）。

表1 3组顶体酶活性及精液常规分析结果对比

| 组别 | $n$ | a+b级精子活动率 (%) | 顶体酶活性 (μU/$10^6$) | 精子浓度 ($\times10^6$/mL) |
|---|---|---|---|---|
| 对照组 | 70 | 69.54±13.26 | 92.64±18.75 | 136.84±21.77 |
| 观察组1 | 68 | 60.68±10.42$^{\#}$ | 28.79±3.05*$^{\#}$ | 104.71±16.13*$^{\#}$ |
| 观察组2 | 72 | 21.18±3.95* | 16.47±2.47* | 17.32±2.54* |

*$P<0.05$ *vs* 对照组; $^{\#}P<0.05$ *vs* 观察组2.

## 3 讨论

男性不育即夫妻婚后同居时间不低于2年没有采取避孕措施，且女方也无异常受到男方因素影响女方未怀孕者[7]。有原发性与继发性不孕两种类型，前者为特发性不孕，即夫妻婚后从未怀孕；后者为女方流产或怀孕或者有过生育后不低于两年在没有采取任何避孕措施的前提下未使女方怀孕者。男性不育属于复杂综合征，有诸多因素会影响男性不育，比如分子突变或者遗传因素，Y染色体缺失或微小，因子基因受睾丸决定、微卫星CAG多态性以及生精基因突变等[8-9]，且食品包装、噪声、研究、毒品、汽车尾气、微生物感染以及辐射等均会影响男性不孕[10]。

经临床研究后得知顶体酶密切关联于男性不育。顶体为扁囊状结构，在精子细胞核前方覆盖，其组成包括3部分，分别为顶体内膜、外膜以及顶体腔。细胞膜与顶体外膜间有薄层细胞质存在，且存在多种关联于受精的化学物质。顶体反应为精子获能后从细胞卵丘、透明带与放射冠穿透前或者穿透期间顶体产生的诸多变化，而后释放顶体内容物，将卵细胞周便透明带与放射冠溶解，继而从卵细胞与透明带中穿透融合后受精。细胞膜与顶体外膜融合后会产生囊状小泡，突状小泡消失后暴露顶体内膜。此间会暴露或者释放各种顶体酶，并具备活性，将各自作用发挥出来后将卵子边透明带溶解，精子可靠近卵子继而结合受精。男性不育密切关联于顶体酶活性低下。精子顶体酶相连于顶体膜，属于胰蛋白酶样丝氨酸蛋白酶，在顶体中合成与储存时主要应用酶原形式，受精时其为关键酶，精子结合于卵子且产生顶体反应后释放出顶体酶原，营造优良条件促进精卵结合。顶体酶活性较低时会导致卵细胞卵丘分解受到影响，且精子在穿透卵细胞透明带时也有一定影响，最终诱发男性不育。因此在对精子生育能力予以判断时顶体酶活性为重要指标，可对精液常规分子中只能对男性一般生育能力比如精子活动率、密度以及活力等予以判断但无法对精子功能状态进行判断的缺陷予以弥补[11]。临床检测顶体酶活性可将精子质量更好反映出来，便于找出不育主要原因。

影响精子顶体酶活性的因素有很多，如禁欲时间，药物、精液的保存方式及精液体外停留的时间[12-15]。本组观察组2 a+b级精子活动率明显低于其他两组；对照组精子浓度明显高于观察组；对照组顶体酶活性明显高于观察组1。由此可知，精子顶体酶活性密切关联于精子质量，且精子活动率与密度下降后顶体酶活性也会相

应降低。

综上所述,顶体酶活性低下密切关联于男性不育,检测不育男性精子中顶体酶活性临床价值重大,可将精子质量全面反映出来,进而评价其功能状态,有推广价值。

## 参考文献:

[1] Komiya A, Watanabe A, Kawauchi Y, et al. Sperm with large nuclear vacuoles and semen quality in the evaluation of male infertility[J]. Syst Biol Reprod Med, 2013, 59(1): 13-20.
[2] Pons I, Cercas R, Villas C, et al. One abstinence day decreases spermDNA fragmentation in 90% of selected patients[J]. J Assist Reprod Genet, 2013, 30(9): 1211-8.
[3] 叶峻杰,马丽,杨丽娟,等.少弱精症患者精子顶体酶活性分析[J].中国计划生育学杂志, 2012, 20(9):623-5.
[4] De Vos A, Van De Velde H, Joris H, et al. Innuence of individual sperm morphology on fertilization,embryo morphology and prengnancy outcome of intracytoplasmic sperm injection[J]. Fertil Steril, 2003, 79(1): 42-8.
[5] Langlois MR, Oorlynck L, Vandekerckhove F, et al. Discrepancybetween spermacrosin activity and sperm morphology: significance forfertilization in vitro[J]. Clin Chim Acta, 2005, 351 (1/2): 121-9.
[6] 何 静, 吴鹰军, 曹晓君. 不育男性精液中的顶体酶活性分析[J]. 吉林医学, 2013, 34(12): 2206-7.
[7] Madar J, Urbánek V, Chaloupková A, et al. Role of sperm antibodies and cellular autoimmunity to sperm in the pathogenesis of male infertility[J]. Ceska Gynekol, 2002, 67(1): 3-7.
[8] 刘锦宏, 李小珍. 男性不育症患者精液质量与精子顶体酶活性关系分析[J]. 长治医学院学报, 2013, 27(2): 125-7.
[9] 计 垣. 从不同角度探讨男性不育的原因[J]. 中国优生与遗传杂志, 2013, 18(10): 136-9.
[10] 郭桂林,张 影. 男性不育症常见原因分析[J]. 中国当代医药, 2011 , 18(28): 82-3.
[11] Bieniek JM1,Drabovich AP,Lo KC. Seminal biomarkers for the evaluation of male infertility[J].Asian J Androl, 1994, 11(3): 51-2.
[12] 刘睿智, 董乃屹, 高元奇, 等. 禁欲时间对人精子顶体酶活性精子密度和精子数的影响[J]. 中国妇幼保健, 2005, 20(24): 3306-7.
[13] Chaudhury K, Das T, Chakravarty B, et al. Acrosin activity as a potential marker for sperm membrane characteristics in unexplainedmale infertility[J]. Fertil Steril, 2005, 83(1): 104-9.
[14] 邓顺美, 唐运革, 唐立新, 等. 冷冻对精子顶体酶活性及精子功能影响的研究[J]. 中国计划生育学杂志, 2013, 21(2): 102-4.
[15] 张 丹, 庞 敏, 肖雪晴, 等. 精液预洗后顶体酶活性测定的动态观察[J]. 新疆医学, 2013, 43(8): 20-2.